

**„Untersuchungen zur Verhütung des Alloxan-
und Dithizondiabetes durch vorhergehende
Glukosegaben“**

Georg Freiherr von dem Bussche — Streithorst



Aus der II. Medizinischen Klinik der Universität München
Vorstand: Professor Dr. Dr. Gustav BODECHTEL

"UNTERSUCHUNGEN ZUR VERHÜTUNG DES ALLOXAN-
UND DITHIZONDIABETES DURCH VORHERGEHENDE
GLUKOSEGABEN"

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig - Maximilians - Universität zu München

vorgelegt von

Georg Freiherr von dem Bussche - Streithorst
aus Berlin

München 1958

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter : Dozent Dr. MASKE

Mitberichterstatter : Professor Dr. Dr. G. BODECHTEL

Dekan : Professor Dr. W. BÜNGELER

Tag der mündlichen Prüfung: 11.3.1958

I N H A L T

I.	EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	5
	1. Verschiedene Arten des experimentellen Diabetes	5
	2. Zur Genese des chemischen Diabetes	8
	3. Problemstellung	12
II.	METHODEN UND MATERIAL	14
	1. Tiermaterial	14
	2. Die Glukosebelastung nach WEBER	14
	3. Herstellung der Substanzlösungen	15
	4. Die Blutzuckerbestimmung	17
III.	ERGEBNISSE	18
	1. Beobachtungen an Versuchstieren nach Glukose- belastung und anschliessender Injektion von Alloxan	18
	2. Beobachtungen an Versuchstieren nach Glukosebe- lastung und anschliessender Injektion von Dithizon	20
IV.	ERGEBNISDISKUSSION	25
	1. Zink und Alloxandiabetes	25
	2. Zink und Dithizondiabetes	27
V.	ZUSAMMENFASSUNG	28
VI.	LITERATUR	29



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

1. Verschiedene Arten des experimentellen Diabetes

Ein kurzer Abriss der Geschichte des experimentellen Diabetes ist nicht denkbar, ohne den französischen Physiologen Claude BERNARD (1) zu erwähnen. Ihm gebührt der Verdienst, die grundlegenden Fragen des Kohlenhydratstoffwechsels erforscht zu haben, auf denen die theoretische und experimentelle Forschung der folgenden Jahre aufbauen konnte. Wir verdanken ihm neben der Feststellung, dass die Zuckermenge im Blut und in den Körpersäften einen im wesentlichen konstanten Wert hat auch die Erkenntnis, dass der Zucker in Form von Glykogen in Muskulatur und Leber gespeichert wird und dass der Umwandlungsvorgang des Glykogens in Zucker in vivo dem Einfluss des sympathischen Nervensystems unterliegt.

Ein Zufall führte Oskar MINKOWSKI (2) 1889 zum Diabetes mellitus, als er angeregt durch VON MEHRING einem Hund das Pankreas total entfernte. Bis zu diesem Zeitpunkt war nur die exkretorische Funktion des Pankreas bekannt gewesen. Die nach der Operation am Tier aufgetretene Polyurie und Polidipsie liess den erfahrenen Kliniker an das Auftreten eines Diabetes mellitus denken.

Mit dieser Entdeckung erfuhr die experimentelle Erforschung des Diabetes mellitus einen starken Auftrieb, der schliesslich zur Entdeckung des Insulins durch BANTING (3) und BEST im Jahre 1921 führte.

Die Bedeutung der Hypophyse für den Kohlenhydratstoffwechsel wurde in den dreissiger Jahren von den argentinischen Physiologen HOUSSAY und MAGENTA (4) untersucht. Den beiden Forschern war bei Tierversuchen aufgefallen, dass Versuchstiere, denen sie den Hypophysenvorderlappen entfernt hatten, eine stärkere Empfindlichkeit gegenüber Insulin und eine Neigung zu hypoglykämischen Zuständen aufwiesen.

Bei Versuchstieren, denen nach Entfernung des Pankreas auch noch die Hypophyse ausgeschaltet wurde, besserte sich der Diabetes sehr erheblich (HOUSSAY und BIASOTTI(5)).

Aus diesen Versuchsergebnissen liess sich ableiten, dass der Hypophyse eine gewisse diabetogene Wirkung zukommt.

Tatsächlich gelang es F.G. YOUNG (6) durch zeitweilige parenterale Zufuhr von Hypophysenextrakten bei bestimmten Tierarten einen permanenten Diabetes zu erzeugen. Das es sich bei einem solchen metahypophysären Diabetes tatsächlich um einen Pankreasdiabetes, also einen solchen mit destruktiver Schädigung der B-Zellen des Pankreas handelt, konnte von WATERS und BEST (7) bestätigt werden.

Schon 1910 war es PORGES (8) aufgefallen, dass Versuchstiere nach Entfernung der Nebennieren zur Hypoglykämie neigen. Der Ausfall der Nebennieren führte zu Veränderungen im Kohlenhydratstoffwechsel, die den nach Hypophysektomie beobachteten entsprechen (LONG und LUKENS (9)).

LONG, FREY und THOMPSON (10) konnten im Gegenversuch eine diabetogene Aktivität von Nebennierenrindenextrakten nach partieller Pankreasentfernung an Ratten nachweisen. Bei den aus Nebennierenrindenextrakten gewonnenen Substanzen handelt es sich um "Kohlenhydratfaktoren" (KENDALL (11)), zu denen wie heute bekannt ist Hydrocortison, Cortison, Corticosteron und 11-Dehydrocorticosteron gehören.

Neben diesen verhältnismässig groben, das endokrine Gleichgewicht störenden Methoden, einen experimentellen Diabetes zu erzeugen hat in letzter Zeit der sogenannte "chemische Diabetes" viel von sich reden gemacht.

Das erste mal wurde ein chemischer Diabetes mit Alloxan von dem englischen pathologischen Anatomen J. Shaw DUNN (12) erzeugt. Alloxan ist ein Stoff, der in vitro leicht aus Harnsäure entsteht und der von LIEBIG schon im Kaninchenharn nachgewiesen werden konnte. Welche Rolle Alloxan tatsächlich im Stoffwechselgeschehen des menschlichen und tierischen Organismus spielt, ist jedoch bis heute noch weitgehend unbekannt.

Alloxan führt zu einer Schädigung der B-Zellen in den Langerhanschen Inseln des Pankreas bei Kaninchen und anderen Tierarten. Es ist bis heute nicht bekannt, welche chemischen Vorgänge der organspezifischen Alloxanwirkung zugrunde liegen. Als Ausdruck der Stoffwechselstörung kann

man nach der Verabfolgung von Alloxan einen dreiphasischen Verlauf des Blutzuckerspiegels beobachten. Nach einer in der Regel nur kurz dauernden Hyperglykämie kommt es zur vorübergehenden Senkung des Blutzuckerniveaus. Diese Hypoglykämie führt nach etwa 12 bis 24 Stunden häufig zum Tod des Versuchstieres, wenn nicht prophylaktisch Glukose verabreicht wird. Überlebt das Tier die Hypoglykämie, so kommt es nach 24 bis 36 Stunden zur Einstellung eines diabetischen Blutzuckerniveaus und zu einem permanenten Diabetes. G. BRÜCKMANN und E. WERTHEIMER (13) konnten feststellen, dass ausser dem Alloxan auch Alloxantin, Dialursäure und verschiedene einfache N-Homologe dieser Verbindungen eine diabetogene Wirkung aufweisen.

Eine weitere Möglichkeit, einen Diabetes durch Verabreichung körperfremder Substanzen zu erzeugen wurde von I. KADOTA (14) entdeckt. Dieser beobachtete bei Kaninchen einen echten Diabetes mellitus nach intravenöser Injektion von Dithizon (Diphenylthiocarbazon). Er verabfolgte dabei Dosen von 50 bis 100 mg Dithizon pro Kilogramm Tiergewicht. Eingehender wurde der Dithizondiabetes, besonders auch im Hinblick auf den Zink- und Kohlenhydratstoffwechsel von WOLFF, MASKE, STAMPFL und BAUMGARTEN (15) untersucht. Histologisch finden sich beim Dithizondiabetes degenerative Veränderungen des Inselapparates, Schwund der B-Zell-Granula und des Zellplasmas, Pyknose der Kerne und schliesslich totale Nekrose der B-Zellen. Die pathologisch-anatomischen Schädigungen entsprechen beim Kaninchen völlig denen, die sich nach Alloxangaben einstellen. Es wurde weiter gezeigt, dass die diabetogene Wirksamkeit von Dithizon auf dessen Eigenschaft zurückzuführen ist, mit dem Zink in den B-Zellen der Langerhanschen Inseln Komplexe zu bilden. Das rote Zinkdithizonat ist bereits kurz nach der Injektion von Dithizon in den Inselzellen mikroskopisch nachzuweisen.

In letzter Zeit wurden verschiedene weitere Substanzen gefunden, die mit Zink Komplexe bilden und die die Langerhanschen Inseln schädigen.

2. Zur Genese des chemischen Diabetes

a) Beziehungen zwischen Konstitution und diabetogener Wirksamkeit.

Schon vielfach wurde die Behauptung aufgestellt, dass die Ketogruppen in den verschiedensten Agentien (Alloxan und Alloxanderivate, Ascorbinsäurederivate, Glyoxal u. a.) für die diabetogene Wirksamkeit der Stoffe entscheidend seien. PATTERSON (16) schloss, da sich die Dehydrogulonsäure bei seinen Versuchen als unwirksam erwiesen hatte, dass neben den Ketogruppen eine Ringverbindung notwendig sei, um einen Diabetes zu erzeugen. HIDY (17) untersuchte verschiedene Polyketone mit negativem Ergebnis und vermutete die Notwendigkeit eines intakten Pyrimidinkernes.

b) Beziehungen zwischen dem Eiweissstoffwechsel und der diabetogenen Wirksamkeit.

Verschiedene diabetogene Substanzen haben die Eigenschaft, Aminosäuren oxydativ zu desaminieren, so dass man hieraus ein allgemeingültiges Wirkungsprinzip folgern wollte. Es gelang jedoch QUADBECK (18) nachzuweisen, dass eine Reihe von Verbindungen Aminosäuren oxydativ desaminieren, ohne diabetogen wirksam zu sein.

c) Beziehungen zwischen dem Redoxpotential und der diabetogenen Wirksamkeit.

Die Annahme, dass das Redoxpotential von entscheidender Bedeutung für die Diabetesentstehung sei, stammte von STOLL, dem es gelang, mit Ninhydrin einen Diabetes zu erzeugen.

d) Beziehungen zwischen diabetogener Wirksamkeit und dem Glutathionspiegel, besonders im Hinblick auf den Alloxan-diabetes.

LAZAROW (19) (20) konnte beobachten, dass es nach Gaben von Alloxan zu einer erheblichen Senkung des Glutathionspiegels im Blute kommt.

Wurden Versuchstiere mit Glutathion oder mit anderen, Sulfhydrylgruppen enthaltenden Substanzen (Cystein, BAL, Thiouracil oder 5-Methylthiouracil) vorbehandelt, so blieb die diabetogene Alloxanwirkung aus. Alloxan geht hierbei einerseits mit dem Glutathion bzw. den anderen Substanzen chemische Verbindungen ein, die von LAZAROW (21) (22) spektrophotometrisch nachgewiesen werden konnten. Alloxan wurde ausserdem zu Dialursäure reduziert.

Analog zu diesen Vorgängen im Blut nimmt LAZAROW an, dass es in den B-Zellen der Langerhansschen Inseln zu irreversiblen Schädigungen von SH-Gruppen enthaltenden Fermenten kommt. Da in anderen Körpergeweben, die ganz sicherlich ebenfalls SH-haltige Fermente besitzen, derartige Alloxanschäden nicht eintreten, erscheint ein solcher Mechanismus nicht unbedingt wahrscheinlich. LAZAROW (23) glaubt jedoch die elektive Schädigung der B-Zellen auf das hohe Redoxpotential und auf den nur geringen Gehalt an SH-haltigen Fermenten in denselben zurückführen zu können.

GRIFFITHS (24) konnte im Tierversuch einen Diabetes mit Harnsäure erzeugen, wenn er Kaninchen verwendete, die mit einer Kost arm an schwefelhaltigen Aminosäuren ernährt worden waren. Er unternahm ferner Versuche mit N-Benzyl- und N-Butyl-Alloxan (25), das zwar den Glutathionspiegel im Blute herabsetzte, jedoch keine diabetogene Wirkung entfaltete. GRIFFITHS nahm daher konstitutionsmässige Beziehungen zur diabetogenen Wirkung des Alloxans an, die er an die Gruppierung -NH--CO-NH- geknüpft wissen wollte.

e) Beziehungen zwischen diabetogener Wirksamkeit und dem Zinkstoffwechsel

Bekanntlich wird die Insulinsekretion im Organismus von verschiedenen Seiten her beeinflusst. Eine zentrale Bedeutung kommt dabei, neben humoralen und vegetativ-nervalen Faktoren (STAUB (26) und POLLAK (27); LA BARRE (28)) direkt dem Blutzuckergehalt zu. Steigt unter physiologischen oder tierexperimentellen Bedingungen der Blutzuckerspiegel an, so beantwortet der Körper diesen Reiz, sofern keine Funktionsstörung vorliegt, mit einer gesteigerten Insulinsekretion (GRAFE und MEYTHALER (29)). Der Mechanismus dieser physiologischen Bedarfssteuerung und be-

sonders die Rolle, die hierbei dem Zink zukommt, ist noch weitgehend unklar.

Immerhin scheint dem Zink eine grosse Bedeutung zuzukommen. Eine Reihe physikalisch-chemischer, morphologischer und physiologischer Tatsachen scheinen in diesem Zusammenhang interessant zu sein:

Unter physiologischen Verhältnissen, speziell bei Körper-pH ist Insulin gut löslich. Dagegen bildet Insulin mit Zink oder zusammen mit Zink und gewissen basischen Proteinen unlösliche Komplexe.

Im Tierversuch hängt der histochemisch nachweisbare Zinkgehalt in den B-Zellen des Pankreas von der Ernährung der Versuchstiere ab. Fütterung, besonders wenn es sich um kohlenhydratreiche Futtermittel handelt, vermindert, Hunger erhöht den Gehalt an Inselzink (OKAMOTO (30)). Artifizielle Steigerung des Blutzuckerspiegels führt ebenso wie Fütterung zu einer Verminderung des histochemisch nachweisbaren Inselzinks (MASKE, STAMPFL, GAHN (31)).

Mit wenigen Ausnahmen, zu denen z.B. die Ratte zählt, scheinen im Reich der Säugetiere die B-Zellen des Pankreas als Zinkdepots in Frage zu kommen. Diese Zellen sind bekanntlich auch die Insulindepots.

Der Zinkgehalt dieser Zellen ist möglicherweise eine Teilursache für die organspezifische Wirkung gewisser diabetogener Verbindungen wie Dithizon, Oxin u.a. (Vgl. dazu KADOTA und ABE (32); WOLFF, MASKE, STAMPFL und BAUMGARTEN (33)). Bei experimenteller Schädigung der Inselzellen durch derartige Substanzen, kommt es nämlich zu einer Herabsetzung der physiologischen Fähigkeit zu Zinkspeicherung innerhalb der Inseln (MASKE, WOLFF, STAMPFL, BAUMGARTEN (34)). Färbt man bei Anwendung von Diphenylthiocarbazon (Dithizon) das Gewebezink nativ so lässt sich die Feinverteilung des Zinks innerhalb der Zellen genau studieren. Derartige morphologische Studien (H. MASKE (35)) lassen annehmen, dass die mit Dithizon nativ gefärbten Granula mit den sogenannten Inselzellgranula, dem morphologischen Insulinäquivalent, identisch sind.

Quantitative Bestimmungen des Zinks in den B-Zellen lassen sich methodisch sehr schwer durchführen, da eine Trennung der Inselzellen von dem übrigen Pankreasgewebe ein grosses Problem darstellt. Allerdings ist es bei

gewissen Knochenfischen, bei denen das Inselorgan isoliert liegt, gelungen, derartige vergleichende Untersuchungen anzustellen. Der Zinkgehalt im Inselorgan liegt hier circa 4- bis 20-mal über dem des exkretorischen Gewebes (WEITZEL (34)).

Bei Fütterung von Zink kommt es auch zu einer Zunahme des Zinkgehaltes im Pankreas auf das siebenfache des Ausgangswertes. Ähnliche Verhältnisse ergaben sich bei der Verwendung radioaktiver Zink-Isotopen (DRINKER (37), SHELINE (38)).

Nach MASKE (39) muss der Zinkgehalt entsprechend den oben berichteten Eigenschaften von Insulin-Zink-Komplexen eine Teilursache für deren schlechte Löslichkeit und für die Fähigkeit zur Depotbildung neu gebildeten Insulins in Form der Granula sein. Ob diese Insulindepots bereits das wirksame Hormon oder eine unwirksame Vorstufe darstellen, ist, da die Isolierung der Granula schwierig ist, noch nicht entschieden.

Theoretisch wären mehrere Möglichkeiten denkbar, die eine vermehrte Bereitstellung von Insulin durch Veränderung der Löslichkeitsverhältnisse des Insulin-Zink-Komplexes bewirken könnten:

Einmal liesse sich die Löslichkeit durch eine intrazelluläre pH-Verschiebung verändern. Die dazu notwendigen pH-Werte sind aber unter physiologischen Verhältnissen nicht erreichbar. Daher scheidet diese Möglichkeit aus.

Zum zweiten wäre es denkbar, dass das Zink von anderen, stärkeren Komplexbildnern aus den Granulas herausgezogen wird:

Glukose selber kommt hierfür nicht infrage, da sie mit Zink keine Komplexe bilden kann. Da aber Glukose den Anstoss zu einer erheblichen intrazellulären Stoffwechselsteigerung innerhalb der B-Zellen gibt (STIER (40)), ist es möglich, dass diese ein mittelbarer Auslöser bei einem Komplexbindungsvorgang ist. Hierbei könnte es sich um eine Bereitstellung von Substanzen aus dem intermediären Zellstoffwechsel handeln, die auf die Insulin-Zink-Bindung einen Einfluss haben.

Nach in-vitro-Versuchen von MASKE (41), kommen hierfür Aminosäuren, anorganische und organische Phosphate und Glieder des Zitronensäurezyklus infrage, jedoch kann diese Frage einstweilen noch nicht erschöpfend beantwortet werden.

Auf jeden Fall scheint das Zink im Rahmen der blutzuckergesteuerten Insulinsekretion eine überragende, wenn nicht die zentrale Rolle zu spielen, indem es durch seine Gegenwart oder Abwesenheit innerhalb des Insulinkomplexes einen Einfluss auf die Löslichkeit des Insulins ausübt. Die Löslichkeit des Insulins wiederum dürfte die Voraussetzung zur Entfaltung dessen spezifischer humoraler Eigenschaften sein.

Das Zink wird somit zu einem Mittleglied innerhalb des Funktionskreises der blutzuckerinduzierten Insulinsekretion. Ein massiver Eingriff innerhalb der Zinkdepots durch zinkaffine Substanzen stellt daher auch eine erhebliche Beeinträchtigung der Inselfunktion als Ganzes dar.

3. Problemstellung

Nach den Beobachtungen von MASKE, WOLFF und Mitarbeitern wird angenommen, dass für das Zustandekommen eines Alloxandiabetes im Tierversuch, speziell am Kaninchen wie beim Dithizondiabetes die Möglichkeit eines "Zinkbindungsmechanismus" besteht. Alloxan bildet in vitro ebenfalls wenn auch schwächere Komplexe mit Zink als Dithizon. Nach Applikation von Alloxan wurde wie nach Dithizon eine Mobilisierung des Gewebezinks aus den Langerhansschen Inseln festgestellt.

Bereits etwa 3 Stunden nach der Alloxaninjektion war das histochemisch nachweisbare Zink wesentlich verringert. Nach etwa 24 bis 72 Stunden liess sich fast kein Zink mehr in den Inselzellen nachweisen. Gleichzeitig mit der Verminderung des Zinks in den Inselzellen konnte im Tierversuch, speziell bei Hunden, eine Zunahme der Zinkkonzentration im Blutserum und im Harn festgestellt werden.

Im Folgenden soll nun der Versuch unternommen werden den Problemkreis auf einem umgekehrten Wege zu schliessen. War man bisher von der Beobachtung der Verhältnisse im Zinkstoffwechsel nach der Alloxanapplikation ausgegangen, so soll jetzt der Versuch unternommen werden, die Alloxanwirkung nach vorheriger Entfernung des Gewebezinks aus den Inselzellen zu überprüfen. Als Ausdruck der Alloxanwirkung wurde das Verhalten des Blutzuckers beobachtet.

Zur Entfernung des Gewebezinks aus den Inseln bediente ich mich einer von WEBER (42) angegebenen Methode, mit der sich eine optimale Entfernung des Inselzinks erreichen lässt. Diese Methode führt zu einer weitgehenden, jedoch nicht vollständigen Eliminierung des Zinks aus den Inselzellen. Sie besteht aus der wiederholten, kombinierten peroralen und intravenösen Verabfolgung von Glucoselösungen und beruht auf der Feststellung MASKES, dass sich im Hungerzustand eine deutliche Vermehrung, bei Belastung mit Kohlenhydraten eine erhebliche Verminderung des Gewebezinks in den Langerhansschen Inseln histochemisch nachweisen lässt.

Über die Bedeutung des Zinks in den Langerhansschen Inseln ist bislang noch relativ wenig bekannt. Das histochemisch nachweisbare in den Granula der Inselzellen vorkommende Zink steht in einer quantitativen Beziehung zum Funktionszustand der Zellen. So findet sich viel Zink, wenn viel Insulin vorhanden ist bzw. gespeichert wird. Wird nun der Insulingehalt durch eine extreme Glucosebelastung erschöpft, so wird mit dem Insulin auch der Zinkgehalt der Inseln reduziert. Wenn der Zinkgehalt der Inseln wesentlich herabgesetzt ist, sollte Alloxan nicht mehr in demselben Ausmass diabetogen wirksam sein, wie bei unvorbehandelten Tieren, vorausgesetzt, dass die Vorstellung über die Bedeutung des Inselzinks für die Entstehung des Alloxandiabetes richtig ist.

Entsprechend diesen Versuchen, die eine Verhütung der Alloxandiabetes bezwecken sollen, wurden auch Untersuchungen zur Verhütung des Dithi-zondiabetes durch vorhergehende Glucosebelastungen unternommen.

II. METHODEN UND MATERIAL

1. Tiermaterial

Im Laufe von vielen Versuchen hat sich herausgestellt, dass für entsprechende Tierversuche mischrassige Kaninchen am besten geeignet sind. Chinchilla- oder Angora-Kaninchen sind ausserordentlich empfindlich. Es kommt hierbei viel häufiger zu Zwischenfällen. Am günstigsten liegen die Verhältnisse, wenn man Kaninchen mit einem Gewicht von etwa 2 Kilogramm verwendet. Sind die Kaninchen sehr viel schwerer, so erreicht man bei Vorbehandlung der Tiere mit gleicher Dosis Glucoselösung keine optimale "Entzinkung", sind die Tiere leichter, so erliegen sie viel eher einer Kreislaufinsuffizienz, infolge der dann relativ grossen Flüssigkeitsbelastung. Die Tiere wurden etwa 48 Stunden vor Beginn der Versuche nicht mehr gefüttert. Es kommt dadurch zu erheblicher Anreicherung des Zinks in den B-Zellen der Inseln.

2. Die Glucosebelastung nach WEBER(42)

Es wurde eine kombinierte perorale und intravenöse Glucosebelastung vorgenommen. Zu diesem Zweck wurden die Tiere innerhalb von 10 Stunden in Abständen von 2 Stunden, also insgesamt 6 mal, sowohl peroral als auch intravenös belastet. Zur peroralen Verabreichung wurde als Sonde ein dünner Tiemann-Katheter benutzt, der bis in den Magen eingeführt wurde. Es ist hierbei erforderlich, das abgewinkelte Endstück des Tiemann-Katheters derart einzuführen, dass es nicht nach ventral gerichtet zu liegen kommt. Es besteht sonst die Gefahr, dass man mit der Sondenspitze in die Trachea gerät. Meist genügen schon geringe Mengen Flüssigkeit, um bei Sondierung der Trachea einen schnellen Erstickungstod mit typischem Ballonemphysem zu bewirken. Am besten überzeugt man sich, ob die Sonde richtig liegt dadurch, dass man am Sondenausgang hört, ob irgendwelche Atemgeräusche zu vernehmen sind und indem man festzustellen versucht, ob Luft durch die Sondenöffnung aus- oder einbewegt wird. Es hat sich als zweckmässig erwiesen, die Sonde mit etwas Sputum zu befeuchten und dann zu beobachten, ob sich das Sputumbläschen vergrössert oder verkleinert. Damit sich das Tier nicht zu stark be-

wegt, sperrt man es in einen entsprechend grossen Kasten, in dem nur eine Öffnung für den Kopf ausgespart ist.

Um ein Zerbeissen der Sonde zu verhüten, wird dem Tier ein durchbohrter Holzkeil quer zu Ober- und Unterkiefer zwischen die Zähne geklemmt. Der Katheter wird dann durch das Loch eingeführt und ist dadurch gut fixiert. Peroral wurden auf diese Weise jeweils 20 ml 30%ige Glukoselösung verabreicht. Die Lösung wird hierbei körperwarm durch die Sonde in den Magen eingespritzt.

Die intravenöse Injektion erfolgt in die Ohrrendvenen des Kaninchens. Es erfordert dies einige Übung. Voraussetzung ist dabei, dass die Ohren mit einem Bariumsulfid-Wasser-Brei vollständig enthaart werden. Der Brei muss jeweils frisch bereitet werden und darf nicht zu lange auf die Ohren einwirken, da er relativ schnell hart wird und die Haut stark reizen kann.

Intravenös wurden jeweils alle 2 Stunden 20 ml 20%ige sterile Glukoselösung körperwarm injiziert. Es ist sehr wichtig, dass man sehr langsam injiziert, da bei Injektion unter Druck die Venen geschädigt werden können und man nur eine beschränkte Anzahl an Ohrgefässen zur Verfügung hat. Als sehr zweckmässig hat es sich erwiesen die benutzte Venen nach der Injektion der Glukoselösung mit einigen ml physiologischer Kochsalzlösung durchzuspülen. Ein schnelles Injizieren der Glukoselösung führt auch leicht zu unangenehmen Ödemen am Ohr, die das Aufsuchen der Venen erschweren. Am besten führt man die Kanüle ohne den Spritzkolben ein, da sie sich auf diese Weise leichter in die Vene einführen lässt.

3. Herstellung der Substanzlösungen

a) Alloxan.

Das Alloxan (Hoffmann-la Roche) wurde in 5%iger wässriger Lösung intravenös injiziert. Alloxan löst sich in Wasser ausserordentlich leicht. Die Lösung wurde jeweils frisch bereitet und mit Hilfe von Natriumchlorid isotonisch gemacht. Dabei ist streng darauf zu achten, dass die Lösung sauer bzw. schwach sauer ist, da Alloxan im alkalischen Milieu innerhalb kurzer Zeit zerstört wird. Die Injektion erfolgt etwa 30 bis 60 Mi-

nuten nach der letzten Glukosebelastung. Die Dosis betrug 100 mg Alloxan pro Kilogramm Tiergewicht. Die Dosis hat sich bei einer Reihe von Kontrollversuchen als sicher diabetogen erwiesen.

b) Dithizon.

Dithizon (Diphenylthiocarbazon Merck) wurde in 0,2- bis 0,8%iger ammoniakalisch-alkoholisch-wässriger Lösung intravenös injiziert. Dithizon löst sich in kaltem, neutralen Wasser garnicht. Man verwendet deshalb entweder alkalisches erhitztes Wasser oder besser eine ammoniakalisch-alkoholische Stammlösung, die man dann nach besonderer Vorschrift verdünnt. Die Injektion erfolgt entsprechend der des Alloxans etwa 30 bis 60 Minuten nach der letzten Glukosebelastung. Die Dosis betrug jeweils 60 mg Dithizon pro Kilogramm Tiergewicht. Auch diese Dosis ruft bei nicht mit Glukose entsprechend vorbehandelten Kaninchen regelmässig einen Diabetes hervor. Die Dithizonlösung wurde bei der ersten Versuchsreihe zunächst nach dem von WOLFF und MASKE angegebenen Verfahren angefertigt:

"Die nach dem Tiergewicht berechnete Menge Dithizon (Diphenylthiocarbazon) wird in schwach alkalischem 96%igen Alkohol gelöst, wobei 1 bis 2 ml Alkohol 100 mg Dithizon entsprechen. Hierauf wird langsam und unter ständigem Umrühren Aqua dest. (40 bis 50 ml/100 mg Dithizon) von 80 Grad zugegeben, das durch Ammoniumhydroxyd auf pH 7,5 bis 8,0 gebracht wurde. Erreichen der Sättigungsgrenze von etwa 250 mg% nach 10 Minuten Rühren bei 70 bis 80 Grad. Filtrieren und Errechnen des osmotischen Druckes der Lösung aus gelöster Dithizonmenge und Lösungsvolumen auf der Basis:

$$1 \text{ At} = 1 \text{ Mol} / 22,4 \text{ l}$$

und Zugabe von Natriumchlorid bis zur Einstellung des physiologischen osmotischen Druckes von 3,5 At. 37 Gr.C. Filtrieren, Abkühlen und langsam mit kleinen Pausen intravenös injizieren. Bei Hunden Verabreichung in Form von Infusion, Injektionsmenge je nach Gewicht und Dosis (50 bis 100 mg Dithizon/kg) beim Kaninchen 50 bis 100 ml, beim Hunde 500 bis 1000 ml."

Bei einer zweiten Versuchsreihe wurde die Lösung (nach VON DEM BUSSCHE) stärker konzentriert. Dies hat den Vorteil, dass man nur eine geringe Flüssigkeitsmenge bei auch relativ guter Verträglichkeit injizieren kann:

Die nach Tiergewicht berechnete Menge Dithizon (Diphenylthiocarbazon) wird in kleinsten Portionen von etwa 1,5 bis 2,0 ml ammoniakalischen absoluten Alkohol eingebracht. Zur Alkalisierung des absoluten Alkohols trägt man vorher etwa 2 bis 3 Tropfen konzentrierten Ammoniak pro ml Alkohol ein. Das Dithizon muss sich in dieser ammoniakalischen Alkohollösung vollkommen zu einer schwarzbraunen Lösung auflösen, was man im durchscheinenden Licht überprüfen kann.

Diese ammoniakalisch-alkoholische Dithizonlösung wird mit einer 2 ml-Pipette in feinem Strahl und unter Umrühren in etwa 10 bis 20 ml destilliertes Wasser eingetragen und zur Sicherheit noch einmal filtriert. Es darf dann kein Rückstand übrig bleiben. Die Lösung wird von den Versuchstieren eher besser vertragen als die Lösung, die nach der früher angegebenen Vorschrift hergestellt wurde.

4. Die Blutzuckerbestimmung

Der Blutzucker wurde nach dem Verfahren von HAGEDORN-JENSEN bestimmt. Vgl. dazu z.B. K. DIRR, "Quantitatives Arbeiten in der Klinik."

III. ERGEBNISSE

1. Beobachtungen an Versuchstieren nach Glucosebelastung und anschliessender Injektion von Alloxan.

Es wurden insgesamt 15 mischrasrige Kaninchen in der vorher beschriebenen Weise mit Glucose belastet. Nach etwa 10 Stunden, jeweils etwa eine halbe Stunde nach der letzten Belastung, erfolgte dann die Injektion des Alloxans.

Die folgende Tabelle (Tab. 1) zeigt das Verhalten des Blutzuckers nach 100 mg Alloxan je Kilogramm Körpergewicht bei mit Glucose in der im Text angegebenen Weise vorbehandelten Kaninchen:

Tabelle 1

Blutzuckerwerte in Milligramm-Prozent nach der Alloxan-Injektion

Datum	Tier Nr.	Gew. kg	Stunden							Tage						
			12	14	16	18	20	2	3	4	5	6	7	8	9	10
4.7.	158	2,4	147				104	72	90		94	103	118			87
	159	2,5	97				84	111	88		94	100	116			94
	160	1,9	88				84	36 ^x	90		101	52				
	164	2,2	118				95	66 ^x	139		103	115	100			90
14.7.	165	1,5		374												
	166	1,7		94				90	83	44						
	167	1,6		88				84	92	94						
	168	1,4		116				100	120	99						
22.7.	102	1,8	48													
	104	1,7	70					106	91	87		126	98	119	114	
	106	1,7	70					79	110	87		76	98	94	107	
	107	1,7	88					131	80	129		294	114	117	116	
29.7.	108	2,2	83					104	98	87			76	90	125	
	109	2,1	98					104	95	85			94	90	106	
	110	1,7	53 ^x					104		79						

Abkürzungen: x = Gaben von 20 ml 40%iger Glucose intravenös wegen hypoglykämischer Krämpfe

Von den 15 Versuchstieren konnten 13 länger als 4 Tage beobachtet werden.

Ad exitum kamen vorzeitig die Tiere Nr. 165 und Nr. 102:

Bei der Sektion des Tieres Nr. 165, das ohne besondere Krankheitserscheinungen einging, konnte eine Magenperforation festgestellt werden. Der hohe Blutzuckerwert von 374 mg% nach 16 Stunden steht sicherlich damit in Zusammenhang, da ein kontinuierlicher Anstieg des Blutzuckerspiegels nach Magenperforationen infolge peroraler Glucosebelastung schon mehrfach festgestellt wurde. Das Peritoneum stellt ja bekanntlich eine gute Resorptionsfläche für die Glucose dar.

Das Tier Nr. 102 fand den Tod im hypoglykämischen Schock.

Bei den Versuchstieren Nr. 160 und Nr. 164 kam es am zweiten Tage nach der Alloxaninjektion vorübergehend zu hypoglykämischen Zuständen, die jedoch mit intravenösen Injektionen von 20 ccm 40%iger Glucose beherrscht werden konnten.

Bei Tier Nr. 110 wurde schon 14 Stunden nach der Alloxaninjektion eine Senkung des Blutzuckerspiegels auf 53 mg% festgestellt und deshalb ebenfalls Glucose verabfolgt, ohne dass ein Schock vorgelegen hatte.

Keines der 13 länger beobachteten Tiere bekam einen passageren oder permanenten Diabetes. Lediglich das Tier Nr. 107 zeigte am 6. Versuchstag einen vorübergehenden Anstieg des Blutzuckers auf 294 mg%, der aber in den drei darauffolgenden Tagen wieder völlig auf normale Werte zurückging. Mit Glucose vorbehandelte Tiere zeigten nach Alloxaninjektionen ein völlig anderes Verhalten ihres Kohlenhydratstoffwechsels als unvorbehandelte Tiere. Während die letzteren regelmässig am 2. bis 3. Tage mit der Entwicklung eines mehr oder weniger schweren Diabetes reagierten, konnte bei den mit Glucose vorbehandelten Tieren in keinem Falle ein Diabetes nachgewiesen werden.

Die Versuchstiere Nr. 158 und 159 wurden, nachdem sich im Verlauf der Blutzuckerkontrollen keine Abweichung vom normalen Verlauf feststellen lassen konnte, am 10. Versuchstag getötet und sezziert.

Das Tier Nr. 160 kam am 7. Versuchstag spontan ad exitum. Da am letzten Lebenstag noch ein Blutzuckerwert von 52 mg% festgestellt werden

konnte, ist damit zu rechnen, dass der Spontanod durch die Hypoglykämie bedingt ist.

Bei Tier Nr. 164 kam es am 10. Versuchstag zu einem Spontanod. Das Tier litt unter einer Darmerkrankung.

Die Versuchstiere Nr. 166 und 168 wurden, um einen möglichst frühzeitigen Einblick in das pathologisch-anatomische Geschehen zu gewinnen, schon am 4. Versuchstag getötet und sezirt.

Das Tier Nr. 104 wurde noch bis zum 17. Tag nach dem Versuch am Leben gehalten, dann anschliessend getötet und sezirt.

Die Tiere Nr. 106 und 107 wurden am 14. Tag getötet und sezirt.

Die Versuchstiere Nr. 108 und 109 wurden am 11., das Tier Nr. 110 am 6. Versuchstag getötet und anschliessend sezirt.

Pathologisch-anatomisch konnten in allen beobachteten Fällen nahezu normale oder völlig normale Verhältnisse im Pankreas beobachtet werden. Alle Tiere enthielten in ihren Langerhansschen Inseln reichlich A- und B-Zellen. Die sich sonst nach Alloxangaben regelmässig einstellenden Veränderungen in den B-Zellen, vor allem Kernpyknosen und Degenerationerscheinungen, waren nicht feststellbar.

2. Beobachtungen an Versuchstieren nach Glucosebelastung und anschliessender Injektion von Dithizon.

Es wurden insgesamt 25 mischrassige Kaninchen in der vorher beschriebenen Weise mit Glucose belastet. Nach etwa 10 Stunden, jeweils etwa eine halbe Stunde nach der Belastung erfolgte dann die Injektion des Dithizons.

Von den zu Versuchen mit Dithizon verwendeten Kaninchen starben ein Teil der Tiere im hypoglykämischen Schock; ein anderer Teil überlebt die Dithizon-Injektion an sich nicht, so dass sich nur 18 Tiere überhaupt tabellarisch erfassen liessen. Die Verträglichkeit des Dithizons ist im Vergleich zum Alloxan nach der 10-stündigen Glucosebelastung unvergleichlich schlechter und in der Mehrzahl der Fälle fanden die Tiere zwischen dem 2. und dem 13. Tag nach der Injektion den Spontanod, teils im diabetischen Coma, teils aus anderen, im einzelnen nicht feststellbaren Gründen.

I. Versuchsgruppe.

Bei der ersten Versuchsgruppe erhielten 15 Tiere eine 0,2%ige Dithizonlösung, nach Vorbehandlung mit Glucose, intravenös injiziert.

Es wurde jeweils eine Dosis von 60 mg Dithizon je kg Körpergewicht verabfolgt.

In der folgenden Tabelle (Tab. 2) sind die Versuchsergebnisse (Verhalten des Blutzuckerspiegels) angegeben:

Tabelle 2

Verhalten des Blutzuckers nach 60 mg Dithizon (Diphenylthiocarbazon) je nach Kilogramm Körpergewicht bei mit Glucose in der im Text angegebenen Weise vorbehandelten Kaninchen.

Blutzuckerwerte in Milligramm-Prozent nach der Dithizon-Injektion																
Datum	Tier Nr.	Gew. kg	Stunden								Tage					
			12	14	16	18	20	2	3	4	5	6	7	8	9	10
I. Versuchsgruppe:																
16.6.	189	1,9	117		49	59		145	58							
	191	2,0	58		56	76		145	123	142				193 (§)		
	194	2,1	149		69	69		655	550							
23.6.	174	1,9		116	94			226								
26.6.	161	2,3		56				296		382		121				
	162	1,8 x		111				155		234		54				
	163	2,7		98				272		342						
	176	2,1 x		96				415		296		232	285			
	178	2,2	72		x			316		506						
30.6.	152	1,8						189	132	101			308		259	125
	155	2,0						273	264	232			304		223	113

Abkürzungen: x = Gaben von 20 ml 40%iger Glucose intravenös wegen hypoglykämischer Krämpfe

§ = Wert am Leichenblut gemessen

Nur 11 der Tiere konnten überhaupt über einen Zeitraum von 20 Stunden hinaus nach der Injektion beobachtet werden. Hierbei fiel auf, dass sich bei 9 Tieren ein diabetisches Blutzuckerniveau mit einem Anstieg bis auf 226 bis 655 mg% einstellte. Das Tier Nr. 189 erlaubt keine sichere Beurteilung, da es nur bis zum 3. Versuchstag beobachtet werden konnte. Das Tier Nr. 191, wies bei einem Urinzuckergehalt von 0,1 % und einem Blutzuckergehalt von 193 mg% (am Toten Tier abgenommen) einen leichten Diabetes auf. Aber auch bei den übrigen Tieren lässt sich nicht sicher abgrenzen, inwieweit es sich hierbei um einen permanenten oder nur um einen passageren Diabetes handelt.

Über das Schicksal der Versuchstiere ist im einzelnen zu berichten.

Die Tiere Nr. 189 und 194 konnten nur 4 Tage am Leben gehalten werden. Sie fanden beide den Spontanod.

Das Tier Nr. 178 fand am 5., das Tier Nr. 163 fand am 6. Versuchstag den Spontanod. Tier Nr. 191 wurde am 7. Versuchstag getötet und anschliessend sezziert. Die Tiere Nr. 161 und 162 fanden am 8. Tag, das Tier Nr. 176 fand am 9. Tag und das Tier Nr. 174 bzw. 155 fand am 11. bzw. 13. Tag den Spontanod. Nr. 152 konnte noch bis zum 14. Tag beobachtet werden und wurde anschliessend getötet und sezziert.

II. Versuchgruppe.

Bei der zweiten Versuchgruppe wurden 10 Tiere mit einer 0,6 bis 0,8%igen Dithizonlösung nach Vorbehandlung mit Glucose intravenös injiziert. Es wurde jeweils eine Dosis von 60 mg Dithizon je kg Körpergewicht verabfolgt. In der folgenden Tabelle (3) sind die Versuchsergebnisse (Verhalten des Blutzuckerspiegels) angegeben:

Tabelle 3

Verhalten des Blutzuckers nach 60 mg Dithizon je Kilogramm Körpergewicht bei mit Glucose in der im Text angegebenen Weise vorbehandelten Kaninchen.

Blutzuckerwerte in Milligramm-Prozent nach der Dithizon-Infektion

Datum	Tier Nr.	Gew. kg	Stunden							Tage						
			12	14	16	18	20	2	3	4	5	6	7	8	9	10
II. Versuchsgruppe:																
3.11.	501	2,8 am 1. Tag:					137			196		191	527	279		
	500	2,8 am 1. Tag:					112			362						
4.12.	511	2,7 x			x			x	421A	564A	90	98	91	93		
	512	2,5							472	A						
	513	2,8 x			x			x	529A							
	514	2,0							334	401A	381	422				
	515	2,0							417	320	354					

Abkürzungen: x = Glucosegaben wegen hypoglykämischer Krämpfe

A = Gaben von 1/2 bis 1 1/2 E. Altinsulin

§ = Wert am Leichenblut gemessen

Von den bei der zweiten Versuchgruppe mit 0,6 bis 0,8 %iger Dithizonlösung behandelten 10 Versuchstieren konnten nur 7 über einen Zeitraum von 20 Stunden nach der Injektion hinaus beobachtet werden. Diese 7 Tiere wiesen ein Blutzuckerniveau von maximal 362 bis 564 mg% auf.

3 Tiere (Nr. 511, 512 und 513) fanden den Spontan-tod. zwischen dem 3. und 11. Versuchstag; 4 Tiere (Nr. 500, 501, 514 und 515) kamen zur Sektion und histologischen Auswertung. Die Tiere Nr. 511, 512 und 513 erhielten vom 2. Tag an, Nr. 514 vom 4. Tag an zwischen 0,5 und 1,5 Einheiten Altinsulin injiziert.

Schicksal der Versuchstiere der II. Versuchgruppe im einzelnen:

Das Tier Nr. 513 fand am 3. Versuchstag, das Tier Nr. 512 fand am 4. Tag den Spontan-tod. Die Tiere Nr. 500 und Nr. 515 wurden am 5. Versuchstag getötet und anschliessend sezirt. Tier Nr. 514 wurde am 6. Tag getötet und sezirt, Tier Nr. 501 wurde am 10. Tag getötet und sezirt und Tier Nr. 511 fand am 11. Tag den Spontan-tod.

Auch bei dieser Versuchgruppe lässt sich nicht mit Sicherheit sagen, inwieweit die Tiere permanent oder passager diabetisch wurden, jedoch ist sicherlich aus beiden Versuchsreihen abzuleiten, dass sich der Dithizon-diabetes durch die angegebenen Glucosebelastungen nicht verhüten lässt. Inwieweit ein prozentual gering geradigeres oder leichteres Auftreten des Dithizon-diabetes nach Glucosebelastung eintritt, lässt sich bei der hohen Sterblichkeit der Versuchstiere und der relativ geringen Menge auswertbaren Materials nicht beurteilen.

IV. ERGEBNISDISKUSSION

1. Zink und Alloxandibetes

Aus den Versuchsergebnissen geht hervor, dass sich Alloxandibetes beim Kaninchen durch eine kombinierte Glucosebelastung verhüten lässt. Es liegt daher nahe zu fragen, welche Schlussfolgerungen aus dem Ergebnis dieser Versuche im Hinblick auf die Vorgänge bei der Entstehung des Alloxandibetes, speziell innerhalb der Langerhansschen Inseln, gezogen werden können. In der Einleitung war bereits auf die Möglichkeit eines "Zinkbindungsmechanismus" als Ursache der inselspezifischen Alloxanwirkung hingewiesen worden. Fasst man alle bisher bekannten Tatsachen zusammen, so rückt die Möglichkeit eines derartigen Mechanismus in den Bereich der Wahrscheinlichkeit.

- 1) Parenteral verabreichtes Alloxan schädigt elektiv die B-Zellen der Langerhansschen Inseln.
- 2) Innerhalb der Langerhansschen Inseln bei Kaninchen ist das Zink anscheinend vorwiegend in den B-Zellen lokalisiert (MASKE, WOLFF, STAMPFL, BAUMGARTEN).
- 3) Im Verlauf des Alloxandibetes verschwindet das Zink aus den Inselzellen. Es muss demnach normalerweise vorwiegend in den B-Zellen lokalisiert sein.
- 4) Die Möglichkeit einer Alloxanzinkbindung in vitro ist bei Körper-pH gegeben (DENIGES).
- 5) Nach Alloxangaben erfolgt eine vermehrte Ausscheidung von Zink mit dem Harn. Auch wenn die Alloxanhämolyse durch Tokopherol verhindert wird, so dass zerfallende Erythrocyten als Quelle der vermehrten Zinkausscheidung ausfallen. Das vermehrt im Harn vorkommende Zink mag zum Teil aus den Geweben, zum Beispiel aus den Langerhansschen Inseln, mobilisiert sein; zum Teil kann es aber auch durch eine Überführung des an und für sich nicht harnfähigen Serumzinkes in einer harnfähigen Form ausgeschieden werden. (MASKE, WOLFF, STAMPFL, BAUMGARTEN).
- 6) Andere zinkaffine Reagentien erzeugen ebenfalls einen echten Pankreasdiabetes (KADOTA), indem zunächst eine Zinkbindung in den Inseln eintritt. Der Verlauf und das klinische Bild von Zinkbindungsdiabetes und Alloxandibetes sind praktisch nicht zu unterscheiden.

- 7) Bei durch Glucosebehandlung "zinkarm" gemachten Inseln findet sich weniger Substrat für das Alloxan. Ein Diabetes bleibt aus.

Es lassen sich jedoch auch Einwände gegen das Vorliegen eines "Zinkbindungsmechanismus" beim Zustandekommen des Alloxandiabetes machen:

Wie ich bereits erwähnte verhalten sich Insulin und Zink bei langandauernder Glucosebelastung parallel. Das histochemisch erfassbare Zink wird durch die Glucosebelastung aus den Langerhansschen Inseln entfernt. Die Erhöhung des Blutzuckerspiegels stellt aber auch einen spezifischen Reiz für die Ausschüttung von Insulin dar. (GRAFE und MEYTHALER). Da nun Insulin und Zink in den Inseln auch an gleicher Stelle lokalisiert sind, käme bei normalen Versuchstieren auch Insulin als intrazelluläres Substrat der diabetogenen Noxen in Frage. Ein derartiger "Insulinbindungsmechanismus" bedarf sicherlich einer gewissen Erwägung, obwohl Insulin-Alloxanverbindungen in vitro nicht nachgewiesen werden können. Es ist nicht auszuschliessen, dass unter zellphysiologischen Verhältnissen die Möglichkeit einer komplexen Reaktion zwischen Insulin, Zink und diabetogenen Substanzen besteht, womit man beiden Hypothesen gerecht werden könnte.

Darüberhinaus könnte man das Ausbleiben eines Alloxandiabetes nach Glucosebelastung auch auf eine Veränderung des onkotischen und zellularosmotischen Gleichgewichtes zurückführen, da die Tiere erhebliche Verschiebungen in ihrem Wasserhaushalt durchmachen, bevor das Alloxan injiziert wurde. Es sei hierbei aber auf eine Mitteilung von MASKE verwiesen, dem es gelang den Alloxandiabetes auch durch vorhergehende Suprarenininjektionen zu verhindern. Mit Suprarenin lässt sich bekanntlich ebenfalls eine mehrstündige Hyperglykämie erzeugen, ohne dass es zu unangenehmen Austrocknungserscheinungen am Versuchstier kommt, wie sie häufig nach Glucosebelastungen beobachtet werden konnten. Die Beobachtungen von E. H. KASS und W. H. WASIBREN (43) wonach die diabetogene Wirkung des Alloxans zur Quantität der Ernährung des Versuchstieres in Beziehung steht, lässt sich ebenfalls durch das Verhalten des Inselzinks erklären.

Zusammenfassend lässt sich eine Reihe von Hinweisen anführen, die für eine Beteiligung des intrazellulär in den Langerhansschen Inseln vorliegenden Zinkes an der inselspezifischen Alloxanwirkung sprechen. Es ist bis heute jedoch nicht möglich diese Vorstellung endgültig zu beweisen.

2. Zink und Dithizon diabetes

Durch die bisher von WOLFF und MASKE angestellten Untersuchungen konnte eine Zink-Dithizonreaktion als primärer Vorgang beim Zustandekommen des Dithizon diabetes sicher festgestellt werden. Die oben beschriebenen Versuche, die eine Verhütung des Dithizon diabetes durch vorhergehende Glucosebelastung zum Ziele hatten, haben jedoch kein eindeutiges Ergebnis gezeitigt. Die Beobachtung, dass bei der Mehrzahl der Tiere ein Dithizon diabetes durch vorhergehende Applikation grösserer Glucosemengen nicht verhindert werden konnte, mag ihre Erklärung dadurch finden, dass es nicht gelingt, das Inselzink durch Glucosebelastungen vollständig zu entfernen. Wenn sich auch histochemisch in den Inseln Zink nicht mehr nachweisen lässt, so ist dennoch nicht sicher, dass kein Zink mehr in den Inseln vorhanden ist. Der histochemische Nachweis von Zink ist abhängig von einer Mindestkonzentration. Daher mag das Dithizon immer noch zwar geringe, aber ausreichende Mengen des Reaktionspartners Zink zur Verfügung haben. Will man vergleichsweise die Verhältnisse beim Alloxand diabetes heranziehen, so mag auf die grössere Metallspezifität des Dithizons und auf die Stabilität entsprechender Metall-Dithizonverbindungen innerhalb des Organismus hingewiesen werden, die die stärkere Wirkung des Dithizons beim Vorliegen nur geringer Zinkmengen erklärt.

Nach einer weiteren Mitteilung MASKES (31) führten entsprechende Versuche, den Dithizon diabetes durch eine Vorbehandlung der Versuchstiere mit Suprarenin zu verhindern, auch nicht zu der gewünschten Schutzwirkung.

Die diabetogene Wirkung des Dithizons, die sicher an das Vorhandensein von Zink in den Langerhansschen Inseln geknüpft ist, lässt sich durch die vorhergehende, aber nur teilweise Entfernung des Inselzinks nicht verhindern. Spuren von intrazellulär gelegenen Zink reichen anscheinend für die Manifestierung der zelltoxischen Dithizonwirkung aus.

V. ZUSAMMENFASSUNG

1. Durch Behandlung von Kaninchen mit Glucose lässt sich das in den B-Zellen des Inselapparates nachweisbare Zink bis auf geringe Reste eliminieren.
2. Die diabetogene Alloxanwirkung bleibt nach Vorbehandlung der Versuchstiere mit Glucose unter bestimmten Voraussetzungen aus.
3. Es wird als sehr wahrscheinlich angesehen, dass eine Zink-Alloxan-Bindung primär bei der Genese des Alloxandiabetes eine Rolle spielt.
4. Der Dithizondiabetes lässt sich bei Vorbehandlung der Versuchstiere mit Glucose nicht verhüten. Dennoch kann am Bestehen eines "Zink-bindungsmechanismus" beim Dithizondiabetes festgehalten werden.

VI. LITERATUR

1. Claude Bernard: Vorlesungen über Diabetes, Berlin 1878
2. Oskar Minkowski: Arch.f.exp.Path.u.Pharmak. 31, 1892
3. F.Banting: The early story of insuline, 1934
4. B.A.Houssay u. Magenta:
Compt.rend.Soc.Biol. 92, 1925; 97, 1927
5. B.A.Houssay u. Biasotti:
Pflüg. Arch. 227, 1931; Endocrinol. 15, 1931
6. F.G.Young: Lancet, Vol.II, 1937
7. Waters and C.H.Best.:
J.Am.Med.Ass. Sept., 1941
8. Porges: Z.f.klin.Med. 69, 1910
9. C.M.H.Long u.F.D.Lukens:
J.Exp.Med. 63, 1936; Am.J. Phys. 116, 1936
10. Long, Fry and Thompson:
Am.J.Phys. 123, 1938
11. Kendall: Endocrin. 30, 1942
12. J.Shaw Dunn: J.Path.and Bact. 55, 1943
13. G.Brückmann u.E.Wertheimer:
J.of.Biol.Chem. 168, 241, 1947
14. I.Kadota: J.Labor a.Clin.Med. 35, 568, 1950
15. H.Wolff, H.Maske, B.Stampfl und f.Baumgarten:
Arch.exp.Path.u.Pharmak. 440-456, 1952
16. I.W.Patterson: Science 111, 724, 1950
17. P.H.Hidy: J.of Biol. Che. 163, 307, 1946

18. G. Quadbeck: Z. phys. Chem. 285, 1950
19. A. Lazarow: Anat. Rec. 91, 24, 1945
20. A. Lazarow: Proc. Exp. Biol. a. Med. 61, 441, 1946
21. A. Lazarow: Anat. Rec. 97, 335, 1947
22. A. Lazarow u. J. W. Patterson:
Science 108, 308, 1948
23. A. Lazarow: Physiol. Rev. 29, 48, 1948
24. M. Griffiths: J. of. Biol. Chem. 172, 853, 1948
25. M. Griffiths: J. of. Biol. Chem. 184, 189, 1950
26. A. Staub: Biochem. Z. 118, 93, 1921
27. H. Pollak: Erg. inn. Med. 23, 337, 1923
28. J. La Barre: Arch. int. 29, 227, 238, 257, 1927
29. E. Grafe u. F. Meythaler:
Arch. exp. Path. u. Pharmak. 125, 181, 1927;
131, 80, 1928; 136, 360, 1928
30. K. Okamoto: Transact. Soc. path. jap. 32, 99, 1942; 33, 247,
1943
31. H. Maske, B. Stampfl, H. Gahn:
Z. klin. Med. 152, 68, 1953
32. J. Kadota u. T. Abe:
J. Labor. Clin. Med. 43, 375, 1954
33. H. Wolff, H. Maske, B. Stampfl, F. Baumgarten:
Arch. exp. Path. u. Pharmak. 216, 440, 1952
34. H. Maske, H. Wolff, B. Stampfl, F. Baumgarten:
Arch. exp. Path. u. Pharmak. 216, 457, 192
35. H. Maske: Z. f. Naturf. 86, 96, 1953
36. G. Weitzel, J. Strecker, U. Roester, A. M. Fretzdorff u. E. Buddecke:
Z. physiol. Chem. 295, 83, 1953

- 37. K. R. Drinker, P. K. Thompson, H. Marsh:
Am. J. Physiol. 80, 31, 1937
- 38. G. E. Sheline, J. L. Chaikoff, H. B. Jones u. M. L. Montgomery:
J. Biol. Chem. 149, 1943
- 39. H. Maske: Experientia, Vol. XI, 1955, 122
- 40. A. Stier: Z. Anat. Entwicklungsgesch. 116, 399, 1952
- 41. H. Maske: Dtsch. Ges. phys. Chem. Kiel, 1954
- 42. Weber: Inaug. Diss. München 1953
- 43. E. H. Kass u. W. H. Wasibren:
Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 60, 303, 1945

Herrn Privatdozenten Dr. Helmuth Maske sei an dieser Stelle für die Überlassung des Themas und die Bereitstellung von Mitteln zur Ausführung dieser Arbeit mein ergebenster Dank ausgesprochen.

Lebenslauf

Am 4.11.27 wurde ich, als Sohn des Legationssekretärs Hans Freiherr von dem Bussche - Streithorst und seiner Gemahlin Caroline, geb. Gräfin Platen-Hallermund, zu Berlin geboren.

Ich besuchte in Berlin die Volksschule (1934-37) und die Hohenzollern-Oberschule (1937-43). Von 1943 bis 1945 war ich Luftwaffenhelfer und Soldat. 1947 legte ich als Extraneer die Reifeprüfung in Berlin ab. Meine vorklinische Ausbildung absolvierte ich an der Aussenstelle der medizinischen Fakultät der Universität München in Regensburg. Seit 1950 studierte ich in München, wo ich im Sommer 1953 die ärztliche Staatsprüfung bestand.

